

Contribution à l'étude de *CONIDIOBOLUS OSMODES* Dreschler
 (Zygomycètes ENTOMOPHTHORACEAE) agent occasionnel
 d'Épizooties chez les Pucerons (Homoptères APHIDIDAE)

par B. PAPIEROK* et J. COREMANS-PELSENEER**

RÉSUMÉ. - L'Entomophthorale *Conidiobolus osmodes* a été trouvée responsable d'une épizootie dans une population du Puceron *Macrosiphoniella oblonga* évoluant sur Chrysanthème cultivé, sous tunnel de film plastique. Une des souches de ce champignon isolées du sol quatre mois après la disparition des pucerons se révèle particulièrement entomopathogène au laboratoire.

SUMMARY. - The fungus *Conidiobolus osmodes* (Zygomycetes Entomophthoraceae) caused an epizootic in a population of *Macrosiphoniella oblonga* on chrysanthemums in a polythene tunnel. One of the strains of this fungus isolated from the soil four months later is pathogenic for insects in the laboratory.

Isolé à l'origine de plantes en décomposition (1954), le champignon Zygomycète *Conidiobolus osmodes* Dreschler a été retrouvé dans le sol : échantillon de terre du littoral de la Somme, France, échantillons de terre provenant de champs cultivés à Milmort et Villiers-l'Évêque, Belgique (COREMANS-PELSENEER, 1978).

De plus, *C. osmodes* a été isolé, à plusieurs reprises, d'Homoptères *Aphididae* en France. Les essais d'infection expérimentale réalisés alors sur les Aphides *Sitobion avenae* F. et *Myzus persicae* Sulz. donnèrent une mortalité par mycose de l'ordre de 1%, confirmant ainsi l'existence d'un pouvoir entomopathogène

* Unité de Lutte biologique contre les Insectes, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, F 75724 Paris Cedex 15.

** Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine, Université libre de Bruxelles, 115, boulevard de Waterloo, B 1000 Bruxelles.

chez ce champignon (REMAUDIERE et al., 1976 b). Par la suite des taux de mycose allant jusqu'à 20% étaient obtenus chez les Pucerons *Metopolophium dirhodum* Wlk. soumis à l'infection.

La découverte sur Chrysanthème cultivé (*Chrysanthemum indicum*), en novembre 1976, d'un grand nombre d'individus de *Macrosiphoniella oblonga* Mordv. (Homoptères *Aphididae*) tués par *C. osmodes* nous a amenés à préciser les caractéristiques de la mycose et à rechercher le champignon dans le sol une fois l'insecte-hôte disparu.

OBSERVATIONS ET RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1. Caractéristiques de l'épizootie à *Conidiobolus osmodes*

Les observations ont été réalisées en 1976 à Dechy (Nord) dans une parcelle de chrysanthèmes cultivés de 7,50 m de longueur sur 4,60 m de largeur. Les plants avaient été repiqués en pleine terre début mai et, dès la fin septembre, un film plastique avait été tendu à une hauteur de 1 m au-dessus de la parcelle afin de protéger les plants du vent et des premières gelées. En cas de beau temps, le film plastique était ôté dans le courant de la matinée et replacé en fin d'après-midi.

Au mois d'octobre, une forte pullulation de *Macrosiphoniella oblonga* est constatée sur les chrysanthèmes. *M. oblonga* étant inféodée à *Artemisia vulgaris*, sa présence sur *C. indicum* est tout à fait exceptionnelle, d'autant plus qu'aucun plant d'armoise n'a été observé aux alentours de la parcelle. On pourrait trouver sur *C. indicum* une espèce voisine, *Macrosiphoniella persequens* Wlk., qui vit normalement sur *Chrysanthemum (Tanacetum) vulgare*.

Le 1er novembre, on remarque de nombreux cadavres de *M. oblonga* fixés par le rostre, le plus souvent à la face inférieure des feuilles. Tous présentent les caractéristiques d'une mycose à Entomophthorale. Certains spécimens, de couleur brun grisâtre, sont desséchés mais la majorité, d'une couleur brun brillant et ayant conservé leur forme, semblent de mort récente. Aucun rhizoïde n'est observé.

A l'intérieur des pucerons morts, on note la présence de nombreuses spores de résistance à paroi très épaisse avec l'épispore finement cannelée ondulée (diamètre moyen: 26 μ m; extrêmes: 19,2-33,6 μ m) (fig. 1). Des corps hyphaux sont également observés dans certains cadavres. A la surface des pucerons fraîchement tués, placés sur de la cellulose mouillée, apparaissent au bout de quelques heures des conidiophores donnant naissance à des conidies piriformes avec une papille basale arrondie (diamètre moyen: 25 μ m; extrêmes, 16,0-35,2 μ m) (fig. 2). Les souches fongiques isolées suivant la technique décrite par REMAUDIERE et al. (1976 a) poussent rapidement, plissent fortement le milieu et exhalent une odeur caractéristique. L'agent pathogène est identifié comme étant *Conidiobolus osmodes*.

A la mi-novembre, la population de *M. oblonga* a pratiquement disparu;

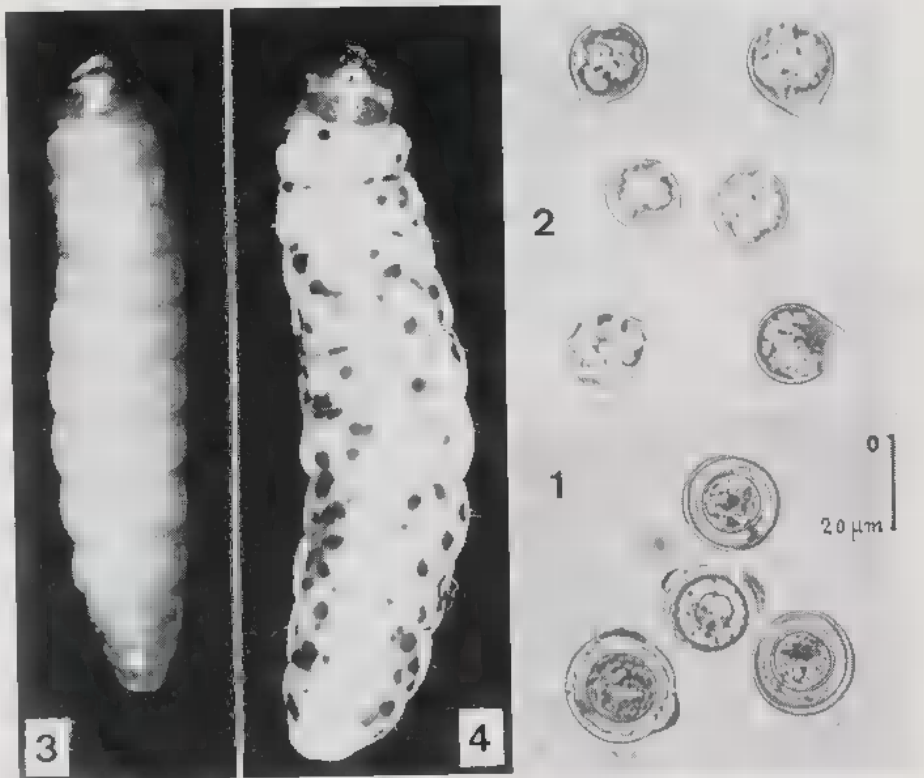


Fig. 1. - Spores de résistance de *Conidiobolus osmodes* Dreschler. - Fig. 2. - Conidies de *C. osmodes*. - Fig. 3. - Chenille saine de *Galleria mellonella*. - Fig. 4. - Aspect de la chenille de *G. mellonella* 12 h après l'infection par *C. osmodes*.

seuls subsistent les œufs pondus par les femelles ovipares épargnées par le champignon. A ce propos, on peut remarquer qu'à l'intérieur des femelles ovipares d'Aphides tuées par une Entomophthorale, les œufs ne sont pas envahis par le mycélium.

2. Isolement de *Conidiobolus osmodes* à partir du sol

La méthode d'isolement d'Entomophthorales à partir d'échantillons de sol a déjà été décrite dans le cas de *Basidiobolus* Eidam (COREMANS-PELSENEER, 1974). Une modification a cependant été introduite : la température d'incubation des boîtes de Pétri est de 16°C au lieu de 25°C. Les contrôles sont effectués 4, 7, 14 et 21 jours après l'ensemencement.

La méthode a été appliquée à plusieurs séries d'échantillons de sols prélevés

à différentes reprises après la disparition des pucerons : 19 échantillons prélevés au total en février 1977 (dont 7 à l'extérieur de la parcelle), 8 en août et décembre 1977 ainsi qu'en mai 1978 (dont 2 à l'extérieur de la parcelle).

Les résultats d'ensemble sont donnés dans le tableau I. Ils révèlent 4 mois après l'épizootie la présence de *C. osmodes* dans 3 emplacements à l'intérieur de la parcelle. Par la suite cette Entomophthorale n'a plus été retrouvée.

Tableau I

Isolement d'Entomophthorales à partir d'échantillons de sol prélevés à l'intérieur et à l'extérieur d'une parcelle couverte ayant supporté des chrysanthèmes cultivés sur lesquels une population de *Macrosiphoniella oblonga* avait été décimée par *Conidiobolus osmodes* en novembre 1976 (Dechy, Nord).

Date du prélèvement et nombre de boîtes de Pétriensemencées par échantillon	Intérieur de la serre		Extérieur de la serre	
	Nb d'échantillons	Entomophthorales isolées	Nb d'échantillons	Entomophthorales isolées
février 1977 13 boîtes	12	3 <i>C. osmodes</i> 6 <i>Conidiobolus</i> spp. 1 <i>B. ranarum</i> Eid.	7	5 <i>Conidiobolus</i> spp. 1 <i>Entomophthora?</i> sp.
août 1977 8 boîtes	6	6 <i>Conidiobolus</i> spp.	11	3 <i>Conidiobolus</i> spp.
décembre 1977 8 boîtes	6	3 <i>Conidiobolus</i> spp.	2	2 <i>Conidiobolus</i> spp.
mars 1978 20 boîtes	11	6 <i>Conidiobolus</i> spp. 1 <i>Entomophthora?</i> sp.	2	11 <i>Conidiobolus</i> spp.

B. ranarum = *Basidiobolus ranarum* Eid.

3. Infection expérimentale d'Insectes avec les souches de *Conidiobolus osmodes* isolées du sol.

L'action pathogène des 3 souches de *C. osmodes* isolées du sol (No 1048, 1049 et 1050 de la mycothèque de l'Unité de Lutte biologique contre les Insectes de l'Institut Pasteur de Paris*) a été recherchée vis-à-vis du Puceron *Acyrtosiphon pisum* Harr. et vis-à-vis des chenilles de *Galleria mellonella* L. (Lépidoptères *Pyralididae*). Les deux souches No 1049 et 1050 produisant très

* Respectivement No 3150, 3156 et 3153 de la mycothèque du Laboratoire de Parasitologie de l'Université libre de Bruxelles.

peu de conidies dans nos conditions expérimentales, les résultats donnés ci-dessous ne concernent que la souche No 1048.

La méthode d'estimation du pouvoir pathogène vis-à-vis de *A. pisum* (clone B) a été décrite récemment (PAPIEROK et WILDING, 1979). Les essais d'infection ont été réalisés simultanément avec une souche de *Entomophthora obscura* Hall et Dunn (No 542) sur des adultes ailés, 4 fois 5 lots de 10 pucerons étant exposés au flux des conidies émises par des cultures durant respectivement 5, 20, 80 et 320 mn. *Conidiobolus osmodes* se révèle particulièrement virulent à l'égard de *A. pisum*; la CL 50 est de 12,8 conidies/mm² (68,2 conidies/mm² dans le cas de *E. obscura*; tableau II). La mortalité est effective dès la fin du séjour des pucerons en atmosphère saturée, c'est-à-dire 29 h 20 mn après le début de l'exposition aux conidies. Au moment de la mort, le puceron conserve sa forme et sa couleur et il n'héberge pas encore de corps hyphaux. Nous n'avons noté aucune formation de rhizoïde. Le développement du champignon dans l'hôte a lieu *post mortem*, il est également limité à la tête et au thorax.

Tableau II

Concentrations létales 50 (CL 50) d'une souche de *Conidiobolus osmodes* (No 1048) isolée du sol et d'une souche de *Entomophthora obscura* (No 542) vis-à-vis de *Acyrtosiphon pisum*

champignon	CL 50 conidies/mm ²	Limites de l'intervalle de confiance (avec 95% proba- bilité 95%)	n ²	degrés de liberté	Pente de la droite de régression	écart-type
<i>Conidiobolus osmodes</i>	12,8	9,0 - 17,5	21,1	18	1,92	0,17
<i>Entomophthora obscura</i>	68,2	38,4 - 101,5	38,5	18	1,06	0,22

au point 5%, $\chi^2 = 28,9$ avec 18 degrés de liberté.

Sur les chenilles de *G. mellonella* soumises à l'infection par les conidies de *C. osmodes* selon la technique de KREJZOVA (1971), on note au bout de quelques heures l'apparition de taches de mélanisation très nombreuses et très intenses (fig. 3 et 4). Les chenilles infectées meurent en 24 h à 48 h. Au moment de la mort, comme dans le cas de l'infection de *A. pisum*, on n'observe pratiquement pas de développement mycélien à l'intérieur de l'insecte. Les cadavres noircissent rapidement, se dessèchent pour former finalement un « sclérote » colonisé par le champignon. Jusqu'à présent l'étude du pouvoir pathogène sur *G. mellonella* n'a pas été abordée au plan quantitatif.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Conidiobolus osmodes, espèce originellement décrite comme saprophyte mais dont REMAUDIERE et al. (1976 b) ont mis en évidence l'action pathogène

vis-à-vis des Pucerons, est capable d'entraîner des épizooties dans les populations aphidiennes. Cette espèce peut donc se comporter dans certaines conditions (forte humidité notamment) comme un agent pathogène primaire. Sa rapidité d'action vis-à-vis des Insectes suggère l'intervention de substances toxiques émises au moment de l'infection et entraînant la mort de l'hôte avant même que le mycélium se développe. Le comportement pathogène de *C. osmodes* peut être rapproché de celui de certaines Entomophthorales telles que *Entomophthora virulenta* Hall et Dunn et *Entomophthora apiculata* Thaxt., dont les toxines ont été étudiées par plusieurs auteurs (YENDOL et al., 1968; PRA-SERTPHON et TANADA, 1969). CLAYDON et GROVE (1978) ont montré récemment que *E. virulenta* produit au moins deux substances toxiques pour les insectes; ils en ont déterminé la nature chimique. Il est intéressant de remarquer que, chez la plupart des Fungi Imperfecti pathogènes d'Insectes, les toxines jouent un rôle essentiel dans le processus infectieux, le champignon se développant en saprophyte aux dépens du cadavre de l'Insecte (FERRON, 1978). En revanche, la mort des pucerons infectés par *Entomophthora obscura*, *E. aphidis* Hofmann ou *E. planchoniana* Cornu, intervient seulement après le total envahissement de l'hôte par le champignon : 2 à 4 jours pour la souche No 542 de *E. obscura* (PAPIEROK et WILDING, 1980).

Nous avons montré par ailleurs que *Conidiobolus osmodes* se maintient dans le sol pendant la mauvaise saison, sous une forme non déterminée (probablement à l'état de zygospores) et qu'il conserve intacte sa potentialité entomopathogène. Le rôle du sol dans la conservation des Entomophthorales pathogènes d'Aphides a été particulièrement souligné par GUSTAFSSON (1969). LATTEUR (1977) a montré que la terre provenant d'un champ ayant supporté une culture sur laquelle une population aphidienne avait été décimée par *Entomophthora aphidis* et *E. obscura*, constitue une source d'infection pour les pucerons venant à son contact. Des pourcentages élevés de germination des azygospores de *E. obscura* ont été obtenus par LATGE et al. (1978) après stockage dans le sol pendant l'hiver. Le sol, qui est capable d'assurer la pérennité de l'inoculum, joue donc probablement un rôle important dans le déclenchement et le déroulement de l'entomophthorose.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur reconnaissance à Monsieur et Madame A. TILMANT pour toutes les facilités qu'ils leur ont accordées dans la conduite des observations et des prélèvements sur le terrain, à Messieurs J. FARGUES et P. H. ROBERT (INRA, La Minière) pour la fourniture des chenilles de *Galleria mellonella* nécessaires aux expériences d'infection et à Monsieur N. WILDING (Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Grande-Bretagne) pour son aide dans l'analyse statistique des résultats.

BIBLIOGRAPHIE

- CLAYDON N. & GROVE J.F., 1978 - Metabolic products of *Entomophthora virulenta*. *J.C.S. Perkin* 1, 2 : 171-173.
- COREMANS-PELSENEER J., 1974 - Biologie des champignons du genre *Basidiobolus* Eidam 1886. Saprophytisme et pouvoir pathogène. *Acta Zool. Pathol. Antverp.* 60 : 1-143.
- COREMANS-PELSENEER J., 1978 - Some Entomophthorales isolated from soil in Belgium. Abstracts XIth Meeting Society Invertebrate Pathology, Prague: 139.
- DRESCHLER C., 1954 - Two species of *Conidiobolus* with minutely ridged zygospores. *Am. J. Bot.* 41 : 567-575.
- FERRON P., 1978 - Biological control of Insect Pests by Entomogenous Fungi. *Ann. Rev. Entomol.* 23 : 409-442.
- GUSTAFSSON M., 1969 - On species of the genus *Entomophthora* Fres. in Sweden. III. Possibility of usage in biological control. *Lantbrukshögsk. Ann.* 35 : 235-274.
- KREJZOVA R., 1971 - Versuchsinfektionen der Raupen von *Galleria mellonella* L. und *Antheraea pernyi* L. durch Vertreter der *Entomophthora*-Gattung. II. *Vest. Cs. spol. zool.* 35 : 114-117.
- LATGE J.P., PERRY D., PAPIEROK B., COREMANS-PELSENEER J., REMAUDIERE G. et REISINGER O., 1978 - Germination des azygospores d'*Entomophthora obscura* Hall et Dunn, rôle du sol. *C. R. Acad. Sci. Paris, série D*, 287 : 943-946.
- LATTEUR G., 1977 - Sur la possibilité d'infection directe d'Aphides par *Entomophthora* à partir de sols hébergeant un inoculum naturel. *C. R. Acad. Sci. Paris, série D*, 284 : 2253-2256.
- PAPIEROK B. et WILDING N., 1979 - Mise en évidence d'une différence de sensibilité entre 2 clones du Puceron du Pois, *Acyrtosiphon pisum* Harr. (Homoptères Aphididae) exposés à 2 souches du champignon zygomycète *Entomophthora obscura* Hall et Dunn. *C. R. Acad. Sci. Paris, série D*, 288 : 93-95.
- PAPIEROK B. et WILDING N., 1980 - Étude du comportement de plusieurs souches de *Entomophthora obscura* Hall et Dunn (Zygomycètes *Entomophthoraceae*) vis-à-vis des Pucerons *Acyrtosiphon pisum* Harr. et *Sitobion avenae* F. (Homoptères Aphididae) (en préparation).
- PRASERTPHON S. et TANADA Y., 1969 - Mycotoxins of entomophthoraceous fungi. *Hilgardia*, 39 : 581-600.
- REMAUDIERE G., KELLER S., PAPIEROK B. et LATGE J.P., 1976 a - Considérations systématiques et biologiques sur quelques espèces d'*Entomophthora* du groupe *sphaerosperma* pathogènes d'insectes (Zygomycètes, *Entomophthoraceae*). *Entomophaga* 21 : 163-177.
- REMAUDIERE G., LATGE J.P., PAPIEROK B. et COREMANS-PELSENEER J., 1976 b - Sur le pouvoir pathogène de quatre espèces d'Entomophthorales occasionnellement isolées d'Aphides en France. *C. R. Acad. Sci. Paris, série D*, 283 : 1065-1068.
- YENDOL W.G., MILLER E.M. et BEHNKE C.N., 1968 - Toxic substances from entomophthoraceous fungi. *J. Invertebr. Pathol.* 10 : 313-319.